

Quinazolinylmethoxybenzene 유도체 합성 및 흑색종 세포증식 저해효능

이준상 · 유경호[†]

한국과학기술연구원 바이오소재센터
(2010년 1월 28일 접수 ; 2010년 3월 10일 채택)

Synthesis and Antiproliferative Activity of Quinazolinylmethoxybenzene Derivatives against Melanoma Cell Line

Jun-Sang Lee · Kyung-Ho Yoo[†]

*Biomaterials Center, Korea Institute of Science and Technology,
P.O. Box 131, Cheongryang, Seoul 130-650, Korea
(Received January 28, 2010 ; Accepted March 10, 2010)*

Abstract: Melanoma is the most aggressive form of skin cancer and is the fastest growing type of cancer in the United States. We report here the synthesis of a novel series of quinazolinylmethoxybenzene derivatives 1a-c and their antiproliferative activities against A375 human melanoma cell line. Among them, urea compound 1a ($IC_{50} = 4.8 \mu M$) having 4-chloro-3-trifluoromethylphenyl moiety showed superior antiproliferative activity to Sorafenib ($IC_{50} = 5.5 \mu M$) as a reference compound. These results will helpful for designing structure of a therapeutic agent for the treatment of melanoma.

Keywords : *quinazolinylmethoxybenzenes, synthesis, antiproliferative activity, melanoma cell line*

1. 서 론

2007년 세계 약 760만 명이 암으로 사망하는 등 암은 전 세계적으로 가장 많은 사망자를 내는 질병 중 하나로 발생 연령이 점차 낮아지며 평균수명의 연장에 따라 암 발생률은 더욱 증가할 것으로 전망된다. 2006년 우리나라 사망원인 분석 결과를 보면 암으로 인한 사망이

65,909명으로 전체 사망자수의 27%를 차지하여 23년째 부동의 사망원인 1위로서 특히 한국도 노령화 사회에 접어들면서 그 비율이 점점 더 늘어 날 것으로 예상된다.

최근에 항암제 시장은 발병률의 증가와 함께 유병률의 증가로 종양치료제 시장은 지속적으로 년 14%의 높은 성장이 예측되며, Gleevec (Novartis)[1], Iressa (Astrazeneca)[2], Tarceva (Genentech)[3] 등의 종양표적 화합물 신약과 Herceptin (Genentech/Roche), Rituxan (IDEC-Biogen), Avastin (Genentech/Roche),

[†]주저자 (E-mail : khyoo@kist.re.kr)

Erbitux (Imclone/BMS) 등의 종양표적 항체 신약 등과 같은 혁신적 항암제가 신규 시장의 창출을 주도하고 있다.

흑색종 (melanoma)은 피부암 중 가장 악성 질환이며 멜라닌 세포가 존재하는 어느 부위에나 생기지만 특히 피부에 가장 많이 나타나는 대표적인 피부암이다. 일반적으로 백인에서 흔히 발생하며 동양인이나 흑인에서 드물게 발생되나 야외에서 일을 많이 하는 경우에 발병 위험성이 높다. 원인은 정확하게 밝혀지지 않았지만 멜라닌 색소를 만들어내는 피부세포인 멜라노사이트 (melanocyte)나 모반 세포가 악성화된 종양이라고 알려져 있으며 어떤 가족군에서는 유전적인 소인이 나타나기도 한다. 질환의 20-50%는 기존에 있던 색소성 모반에서 발생하는데 특히 선천성 모반세포성 모반이나 이형성 모반에서 발생빈도가 높으며, 화상 반흔이나 색소성 건피증 등이 있는 경우에도 발생할 위험성이 있는 것으로 알려져 있다.

악성 흑색종은 가려움증이나 통증 같은 자각 증상이 대개는 없으며 황갈색이나 검은색을 띄는 반점이나 결절로 나타나므로 자가진단이 어렵기 때문에 다음과 같은 자가진단을 위한 간단한 ABCD 관찰요령이 중요하며, 여기에는 A: asymmetry (비대칭성), B: border irregularity (불규칙한 경계), C: color variegation (색조의 다양함) 및 D: diameter (직경)이 0.6 cm 이상인 경우가 포함된다.

악성 흑색종은 다른 피부암에 비하여 전이로부터 사망 위험이 가장 높으며 예후가 나쁜 악성 피부 종양이므로 조기 진단 및 치료가 아주 중요하다. 현재 외과 수술 내지 화학요법, 레이저요법, 방사선요법 등을 시행하지만 아직까지 수술 이외에는 효과적인 치료법이 없는 것으로 알려져 있다. 조기에 발견되지 않을 경우에는 흑색종은 피부 속으로 침투하여 신체의 다른 부위로 전이되며[4], 전이 흑색종은 5년 생존율이 15% 이하이며 평균 생존율은 6-8개월에 불

과한 매우 치명적인 피부암이라고 할 수 있다 [5-8].

현재 통상적인 화학요법 및 방사선요법에 대하여 높은 저항성을 가지는 전이 흑색종에 대한 광범위한 연구가 진행되고 있으나, 이에 대한 근본적인 치료제는 아직까지 개발되어 있지 않으며 부작용을 수반한 증상 완화제로서의 한계성을 나타낸다. 진전된 흑색종에 대하여 면역요법제[9-11]를 포함하여 화학요법제 영역에서 지난 30년 동안에 유일하게 FDA 승인을 받은 의약품인 다카바진 (Dacarbazine, DTIC)[12,13]은 환자들에게 5% 미만의 완치율을 제공할 뿐이다. 전이 흑색종은 다카바진 및 테모졸로미드 (Temozolomide)[14]의 트리아진 (triazine)계, 카무스틴 (Carmustine, BCNU), 로무스틴 (Lomustine, CCNU) 및 포테무스틴 (Fotemustine)의 니트로소우레아 (nitrosourea)계, 시스플라틴 (cisplatin)과 에토포시드 (etoposide)의 조합 요법 (combination therapies) 등에 대하여 낮은 반응율을 나타낸다.

본 연구에서는 지속적인 유효한 흑색종 치료제의 개발을 목적으로 Fig. 1에서와 같이 분자설계를 통한 새로운 골격 구조의 quinazolinylmethoxybenzene 유도체 1a-c의 합성 및 이들의 A375 흑색종 세포종식 저해효능을 검토하고자 한다[15].

2. 실험

2.1. 기기 및 시약

분석 기기는 FT-NMR spectrometer (Bruker Avance 400, Germany)와 LC/MS (Waters ZQ 2000 LC/MS System, USA) 및 melting point apparatus (MPA 100, Stanford Research Systems, Inc., USA)를 사용하여 측

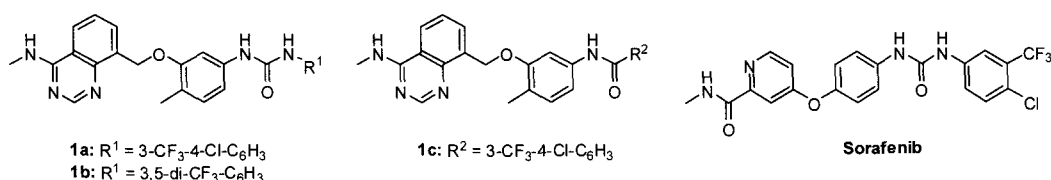


Fig. 1. Structures of quinazolinylmethoxybenzene derivatives 1a-c and Sorafenib.

정하였으며, thin layer chromatography (TLC)에는 실리카겔 60 GF₂₅₄ (0.25 mm, Merck Co., Germany)로 도포되어 있는 유리판을 사용하였다. 반응에 사용한 시약들은 주로 Sigma-Aldrich, TCI, Oakwood, Alfa Aesar 사의 것을 이용하였으며 반응에 이용한 용매는 J. T. Baker 사의 것을 정제없이 사용하였다. 정제가 필요한 용매는 이미 알려진 방법에 의해 정제하여 사용하였고 특별한 언급이 없는 한 모든 반응은 질소 기류 하에서 실시하였다. NMR 용매는 Sigma-Aldrich 사의 DMSO-*d*₆와 CDCl₃를 사용하였으며 시그널의 상대적인 위치는 용매 내에 들어있는 tetramethylsilane (TMS)을 기준으로 하거나 NMR 용매를 기준으로 하였다.

2.2. 실험 방법

8-Methyl-4-quinazolinone (3)

2-Amino-3-methylbenzoic acid (2) (25 g, 165 mmol)에 formamidine acetate (50 g, 496 mmol) 및 formamide (6.6 mL, 165 mmol)를 첨가한 후 160 °C에서 2시간 동안 가열 환류시킨다. 반응이 종결되면 냉각시킨 후 10% NaOH를 가하여 용해시킨 다음 60 °C에서 20분 동안 교반시켰다. 다시 냉각시킨 후 얼음 중탕하에 1N HCl로 중화시킨 다음 침전물을 여과하여 96%의 수율로서 흰색 고체 25.4 g을 얻었다.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12.16 (s, 1H), 8.50 (s, 1H), 7.94 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.66 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.38 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 2.51 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 161.5, 147.7, 144.9, 135.8, 135.1, 126.7, 123.9, 123.0, 17.7.

8-Bromomethyl-4-quinazolinone (4)

화합물 3 (5 g, 31.2 mmol)을 CCl₄ (150 mL)에 용해시킨 후 *N*-bromosuccinimide (6 g, 34.3 mmol) 및 AIBN (1 g, 6.3 mmol)을 첨가한 다음 상온에서 24시간 동안 교반시켰다. 반응이 종결되면 침전물을 여과한 후 여과물을 CH₂Cl₂를 이용하여 정제하여 74%의 수율로서 연노랑색 고체 5.6 g을 얻었다.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12.42 (s, 1H), 8.23 (s, 1H), 8.10 (d, *J* = 7.86 Hz, 1H),

7.96 (d, *J* = 6.45 Hz, 1H), 7.50 (t, *J* = 7.65 Hz, 1H), 5.06 (s, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 179.9, 161.0, 147.0, 145.9, 136.1, 135.2, 127.0, 126.7, 123.9, 123.5, 29.9.

8-Bromomethyl-4-chloroquinazoline (5)

화합물 4 (86 mg, 0.36 mmol)를 toluene (3 mL)에 용해시킨 후 POCl₃ (0.082 mL, 0.90 mmol) 및 *N,N*-dimethylaniline (0.069 mL, 0.54 mmol)을 적가시킨 다음 110 °C에서 4시간 동안 가열 환류시켰다. 반응이 종결되면 물과 NaHCO₃ 수용액으로 세척한 후 CH₂Cl₂로 추출하였다. 유기 층을 무수 sodium sulfate로 건조한 후 여과한 다음 용매를 감압 증류하여 제거하였다. 얻어진 잔사를 column chromatography 법 (ethyl acetate : *n*-hexane = 1 : 3)으로 분리 및 정제하여 85%의 수율로서 흰색 고체 78 mg을 얻었다.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.12 (s, 1H), 8.29 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.13 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H), 7.76 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 5.26 (s, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 160.6, 147.1, 142.0, 137.3, 136.5, 132.9, 128.0, 127.7, 125.1, 122.1, 59.4.

8-Bromomethyl-*N*-methylquinazolin-4-amine (6)

화합물 5 (232 mg, 0.90 mmol)을 THF에 용해시킨 후 methylamine (3.30 mL, 3.30 mmol)을 가한 다음 상온에서 12시간 동안 교반시켰다. 반응이 종결되면 용매를 감압 증류하여 제거한 후 CH₂Cl₂를 가하여 추출하였다. 유기 층을 무수 sodium sulfate로 건조한 후 여과한 다음 용매를 감압 증류하여 제거하였다. 얻어진 잔사를 column chromatography 법 (ethyl acetate : *n*-hexane = 2 : 1)으로 분리 및 정제하여 68%의 수율로서 노랑색 고체 154 mg을 얻었다.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.56 (s, 1H), 8.47 (d, *J* = 3.48 Hz, 1H), 8.19 (d, *J* = 8.34 Hz, 1H), 7.90 (d, *J* = 6.30 Hz, 1H), 7.50 (t, *J* = 7.44 Hz, 1H), 5.17 (s, 1H), 3.01 (d, *J* = 4.53 Hz, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 161.2, 156.8, 142.2, 134.6, 132.2, 124.8, 121.4, 114.2, 24.2, 15.2.

***tert*-Butyl 3-hydroxy-4-methylphenyl-carbamate (8)**

화합물 7 (200 mg, 1.62 mmol)을 THF에 용해시킨 후 di-*tert*-butyl-dicarbamate (354 mg, 1.62 mmol) 및 Et₃N (0.24 mL, 1.78 mmol)을 가한 다음 상온에서 4시간 동안 교반시켰다. 반응이 종결되면 용매를 감압 증류하여 제거한 후 CH₂Cl₂를 가하여 추출하였다. 유기 층을 무수 sodium sulfate로 건조한 후 여과한 다음 용매를 감압 증류하여 제거하였다. 얻어진 잔사를 column chromatography 법 (ethyl acetate : *n*-hexane = 1 : 1)으로 분리 및 정제하여 86%의 수율로서 흰색 고체 310 mg을 얻었다.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.13 (s, 1H), 8.26 (m, 2H), 8.13 (d, *J* = 8.52 Hz, 1H), 8.03 (d, *J* = 8.21 Hz, 1H), 7.83 (d, *J* = 8.51 Hz, 1H), 7.59 (d, *J* = 6.99 Hz, 1H), 7.40 (t, *J* = 7.35 Hz, 1H), 6.99 (m, 2H), 6.78 (s, 1H), 5.67 (s, 1H), 4.79 (d, *J* = 5.78 Hz, 1H), 3.00 (d, *J* = 4.40 Hz, 3H), 2.16 (s, 1H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 161.5, 156.2, 151.2, 138.4, 120.0, 115.0, 106.2, 80.4, 30.8, 30.6, 30.4, 14.3.

***tert*-Butyl 3-((4-methylaminoquinazolin-8-yl)methoxy)-4-methylphenyl-carbamate (9)**

화합물 8 (333 mg, 1.49 mmol)을 DMF에 용해시킨 후 얼음 중탕하에 NaH (119 mg, 4.95 mmol)을 적가한 다음 20분 동안 교반시켰다. 이어서 화합물 6 (250 mg, 0.99 mmol)을 첨가한 후 상온에서 20시간 동안 교반시켰다. 유기 층을 무수 sodium sulfate로 건조한 후 여과한 다음 용매를 감압 증류하여 제거하였다. 얻어진 잔사를 column chromatography 법 (ethyl acetate : *n*-hexane = 2 : 1)으로 분리 및 정제하여 24%의 수율로서 노랑색 고체 95 mg을 얻었다.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.20 (s, 1H), 8.54 (s, 1H), 8.36 (d, *J* = 4.71 Hz, 1H), 8.14 (d, *J* = 8.00 Hz, 1H), 7.88 (d, *J* = 6.94 Hz, 1H), 7.53 (t, *J* = 7.86 Hz, 1H), 7.29 (s, 1H), 7.02 (d, *J* = 8.10 Hz, 1H), 6.92 (d, *J* = 8.29 Hz, 1H), 5.50 (s, 2H), 3.01 (d, *J* = 4.43 Hz, 3H), 2.17 (s, 3H), 1.44 (s, 9H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 160.4, 158.2, 158.1, 152.8,

150.7, 134.1, 133.5, 133.4, 132.8, 128.1, 124.6, 124.1, 118.1, 112.0, 99.9, 80.6, 74.1, 30.1, 26.5, 26.4, 26.1, 15.9.

8-((5-Amino-2-methylphenoxy)methyl)-*N*-methylquinazolin-4-amine (10)

화합물 9 (90 mg, 0.23 mmol)를 CH₂Cl₂에 용해시킨 후 TFA (3.4 mL, 45.63 mmol)을 적가한 다음 1시간 동안 교반시켰다. 반응이 종결되면 NaOH로 중성화한 후 유기 층을 무수 sodium sulfate로 건조 및 여과한 다음 용매를 감압 증류하여 제거하였다. 얻어진 잔사를 column chromatography 법 (ethyl acetate : *n*-hexane = 2 : 1)으로 분리 및 정제하여 88%의 수율로서 노랑색 고체 60 mg을 얻었다.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.53 (s, 1H), 8.38 (d, *J* = 3.42 Hz, 1H), 8.14 (d, *J* = 8.02 Hz, 1H), 7.85 (d, *J* = 7.08 Hz, 1H), 7.52 (t, *J* = 7.80 Hz, 1H), 6.77 (d, *J* = 7.70 Hz, 1H), 6.31 (s, 1H), 6.07 (d, *J* = 7.46 Hz, 1H), 5.47 (s, 2H), 4.85 (s, 2H), 3.01 (d, *J* = 3.60 Hz, 3H), 2.08 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 161.2, 158.6, 156.2, 148.2, 146.4, 138.4, 133.4, 134.1, 127.1, 120.7, 118.4, 112.9, 102.1, 101.5, 70.4, 30.1, 15.6.

1-(3-((4-Methylaminoquinazolin-8-yl)-methoxy)-4-methylphenyl)-3-(4-chloro-3-trifluoromethylphenyl)urea (1a)

화합물 10 (13 mg, 0.043 mmol)을 CH₂Cl₂ (2 mL)에 용해시킨 후 4-chloro-3-trifluoromethylphenylisocyanate (11 mg, 0.048 mmol)를 첨가한 다음 상온에서 1시간 동안 교반시켰다. 반응이 종결되면 여과하여 36%의 수율로서 흰색 고체 8 mg을 얻었다.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.08 (s, 1H), 9.86 (s, 1H), 8.56 (s, 1H), 8.38 (d, *J* = 4.97 Hz, 1H), 8.15 (m, 3H), 7.91 (d, *J* = 6.80 Hz, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.54 (t, *J* = 7.69 Hz, 1H), 7.32 (s, 2H), 7.08 (d, *J* = 8.21 Hz, 1H), 6.98 (d, *J* = 8.07 Hz, 1H), 5.56 (s, 2H), 3.02 (d, *J* = 4.42 Hz, 3H), 2.19 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 161.5, 159.2, 158.4, 158.1, 149.1, 138.7, 138.5, 138.1, 137.6, 131.5, 131.1, 129.6, 125.6, 124.6, 124.1, 120.8, 120.7, 120.6, 120.4, 118.4, 117.1, 114.8, 101.2, 80.5,

30.1, 15.8.

1-(3-((4-Methylaminoquinazolin-8-yl)methoxy)-4-methylphenyl)-3-(3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl)urea (1b)

화합물 1a의 합성에서와 동일한 방법을 이용하여 58%의 수율로서 흰색 고체 14 mg을 얻었다.

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 10.08 (s, 1H), 9.86 (s, 1H), 8.56 (s, 1H), 8.38 (d, J = 4.97 Hz, 1H), 8.15 (m, 3H), 7.91 (d, J = 6.80 Hz, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.54 (t, J = 7.69 Hz, 1H), 7.32 (s, 2H), 7.08 (d, J = 8.21 Hz, 1H), 6.98 (d, J = 8.07 Hz, 1H), 5.56 (s, 2H), 3.02 (d, J = 4.42 Hz, 3H), 2.19 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ 161.5, 159.2, 158.4, 158.1, 149.1, 138.7, 138.5, 138.1, 137.6, 131.5, 131.1, 129.6, 125.6, 124.6, 124.1, 120.8, 120.7, 120.6, 120.4, 118.4, 117.1, 114.8, 101.2, 80.5, 30.1, 15.8.

N-(3-(4-Methylaminoquinazolin-8-yl)methoxy-4-methylphenyl)-4-chloro-3-(trifluoromethyl)benzamide (1c)

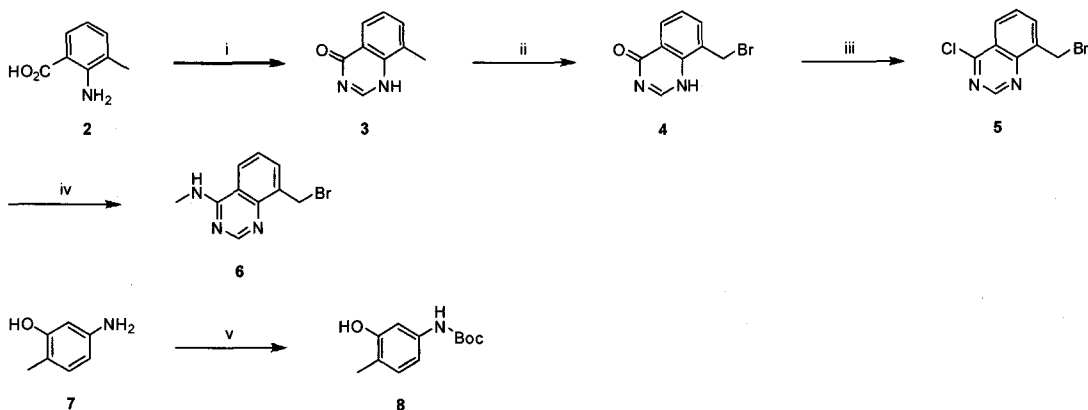
화합물 10 (20 mg, 0.068 mmol)을 DMF (1 mL)에 용해시킨 후 4-chloro-3-trifluoromethylbenzoic acid (31 mg, 0.136 mmol), EDCI (32 mg, 0.170 mmol), HOBT (18 mg,

0.136 mmol) 및 Et₃N (0.05 mL, 0.34 mmol)을 첨가시킨 다음 90 °C에서 20시간 동안 교반시켰다. 반응이 종결되면 용매를 감압 증류하여 제거한 후 ethyl acetate 및 물로 추출하였다. 유기 층을 무수 sodium sulfate로 건조한 후 여과한 다음 용매를 감압 증류하여 제거하였다. 얻어진 잔사를 column chromatography 법 (ethyl acetate : *n*-hexane = 2 : 1)으로 분리 및 정제하여 24%의 수율로서 연노랑색 고체 8 mg을 얻었다.

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 10.46 (s, 1H), 8.55 (s, 1H), 8.37 (m, 2H), 8.25 (d, J = 8.39 Hz, 1H), 8.15 (d, J = 8.24 Hz, 1H), 7.92 (m, 2H), 7.55 (m, 2H), 7.41 (d, J = 8.00 Hz, 1H), 7.18 (d, J = 8.20 Hz, 1H), 5.58 (s, 2H), 3.03 (d, J = 4.46 Hz, 3H), 2.25 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ 171.2, 164.5, 158.8, 158.2, 157.4, 157.1, 145.2, 138.2, 138.0, 133.3, 133.1, 130.3, 128.7, 128.4, 128.1, 125.6, 120.4, 120.1, 118.0, 116.8, 115.1, 101.6, 72.4, 30.1, 15.4.

3. 결과 및 고찰

본 연구에서의 핵심 중간체인 8-bromomethyl-*N*-methylquinazolin-4-amine 화합물 (6) 및 *tert*-butyl 3-hydroxy-4-methylphenylcarbamate



Scheme 1. Reagents and reaction conditions: (i) formamidine acetate, HCONH₂, 160 °C, 12 h; (ii) *N*-bromosuccinimide, AIBN, CCl₄, rt, 24 h; (iii) POCl₃, *N,N*-dimethylaniline, toluene, reflux, 4 h; (iv) CH₃NH₂, THF, rt, 12 h; (v) di-*tert*-butyl-dicarbamate, Et₃N, THF, rt, 4 h.

화합물 (8)은 Scheme 1에서와 같이 일련의 경로를 통해 합성하였다.

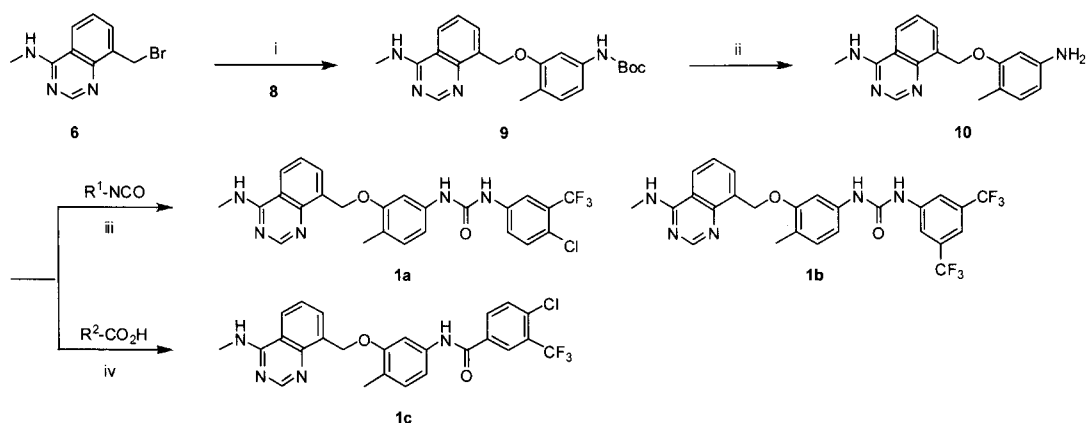
2-Amino-3-methylbenzoic acid 화합물 (2)를 출발물질로 하여 formamidine acetate 및 formamide와 반응시켜서 8-methyl-4-quinazolinone 화합물 (3)을 합성하였다[16]. 이어서 화합물 3과 *N*-bromosuccinimide를 2,2'-azobisisobutyronitrile (AIBN) 촉매 존재하에 CCl₄를 용매로 사용하여 반응시켜서 8-bromomethyl-4-quinazolinone 화합물 (4)를 합성하였다.

8-Bromomethyl-4-chloroquinazolinone 화합물 (5)는 화합물 4와 phosphorus oxychloride를 *N,N*-dimethylaniline 존재하에 반응시켜서 합성하였으며, 얻어진 화합물 5의 chloro기를 methylamine으로 치환반응시켜서 핵심 중간체 6을 합성하였다[17]. 한편, 3-hydroxy-4-methylaniline 화합물 (7)을 친핵성 치환반응시 원하는 방향으로의 선택성을 부여하기 위하여 *di-tert*-butyl-dicarbamate와 triethylamine 염기 존재하에 반응시켜서 amino기가 보호된 *tert*-butyl 3-hydroxy-4-methylphenylcarbamate 화합물 (8)을 합성하였다.

본 연구의 최종 목적물인 quinazolinyl-methoxybenzeneurea 화합물 1a, 1b 및 quinazolinylmethoxybenzamide 화합물 1c는 Scheme 2에서와 같이 일련의 경로를 거쳐서 합성하였다.

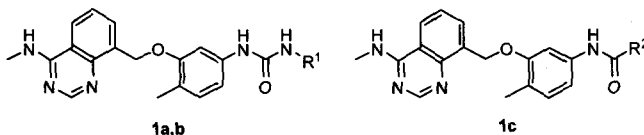
앞서 합성한 핵심 중간체 6과 Boc-protected methylaminophenol을 NaH 염기 존재하에 DMF를 용매로 사용하여 반응시켜서 Boc-protected quinazolinylmethoxybenzene 화합물 9를 합성하였다. 얻어진 화합물 9의 Boc기를 trifluoroacetic acid을 이용하여 dichloromethane 내에서 탈 보호시켜서 8-((5-amino-2-methylphenoxy)methyl)-*N*-methylquinazolin-4-amine 화합물 (10)을 합성하였다. Urea 구조를 가지는 최종 목적물 1a, 1b는 화합물 10을 4-chloro-3-trifluoromethylphenyl isocyanate 및 3,5-di-trifluoromethylphenyl isocyanate와 각각 상온에서 반응시켜서 합성하였다. Amide 구조의 최종 목적물 1c는 화합물 10과 4-chloro-3-trifluoromethylbenzoic acid로부터 *N*-hydroxybenzotriazole (HOBt), 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimide (EDCI) 및 triethylamine 존재하에 amide coupling을 통하여 얻어졌다[18].

Table 1은 합성한 quinazolinylmethoxybenzeneurea 화합물 1a, 1b 및 quinazolinylmethoxybenzamide 화합물 1c의 A375 human 흑색종 종양 세포 (melanoma cell line)에 대한 증식 저해효능을 나타낸다. 대조 물질로는 흑색종에 대하여 우수한 저해효능을 나타내는 것으로 알려진 Sorafenib (Nexavar) [19]를 사용하였다.



Scheme 2. Reagents and reaction conditions: (i) NaH, DMF, 0 °C to rt, 20 h; (ii) TFA, CH₂Cl₂, rt, 1 h; (iii) CH₂Cl₂, rt, 1 h; (iv) HOBt, EDCI, Et₃N, DMF, 90 °C, 20 h.

Table 1. Antiproliferative activity of quinazolinylmethoxybenzeneureas 1a, 1b and quinazolinylmethoxybenzamide 1c.



Compounds	R ¹	R ²	IC ₅₀ (μM)
1a		-	4.8
1b		-	58.3
1c	-		Not fitted
Sorafenib			5.5

시험에 사용된 A375 human 흑색종 종양 세포는 ATCC에서 구입하였으며, 세포를 dulbecco's modified eagle medium (DMEM Medium)에서 10% fetal bovine serum (FBS) 및 1% 페니실린/스트렙토마이신 (penicillin/streptomycin)을 가한 후 5% CO₂하의 37 °C에서 배양하였다. 시험 결과 4-chloro-3-trifluoromethylphenyl기를 가지는 urea 구조의 quinazolinylmethoxybenzeneurea 화합물 1a (IC₅₀ = 4.8 μM)가 A375 human 흑색종 종양 세포에 대하여 대조물질인 Sorafenib (IC₅₀ = 5.5 μM) 보다 우수한 저해효능을 나타내었다. 반면에 amide 구조의 quinazolinylmethoxybenzamide 화합물 1c는 A375 human 흑색종 종양 세포에 대하여 유효한 저해효능을 나타내지 못하였다.

4. 결론

본 연구에서는 현재 유효한 치료제가 부재한 흑색종에 대한 세포증식 저해제로서 새로운 골격 구조를 가지는 quinazolinylmethoxybenzeneurea 화합물 1a,b 및 quinazolinylmethoxybenzamide 화합물 1c를 분자 설계를 거쳐 합성하였다. 이 중에서 urea 구조의 quinazolinylmethoxybenzeneurea 화합물 1a가 A375 human 흑색종 종양 세포에 대하여 IC₅₀ 값이 4.8 μM로서 대조물질인 Sorafenib (IC₅₀ = 5.5 μM) 보다 우수한 저해효능을 나타내었다. 따라서, 본 연구의 결과는 새로운 흑색종 치료제로서의 골격 구조 설계 및 합성적 접근 방법을 제시하였다.

감사의 글

본 연구는 지식경제부 소재원천기술개발사업의 연구비 지원 [K0006028]으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. B. J. Druker and N. B. Lydon, Lessons Learned from the Development of an Abl Tyrosine Kinase Inhibitor for Chronic Myelogenous Leukemia, *J. Clin. Invest.*,

- 105, 3 (2000).
2. D. Raben, B. A. Helfrich, D. Chan, G. Johnson, and P. A. Bunn, Jr., ZD1839, A Selective Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Inhibitor Alone and in Combination with Radiation and Chemotherapy as a New Therapeutic Strategy in Non-small Cell Lung Cancer, *Semin. Oncol.*, 29 (Supplement 4), 37 (2002).
 3. R. Pérez-Soler, A. Chachoua, L. A. Hammond, E. K. Rowinsky, M. Huberman, D. Karp, J. Rigas, G. M. Clark, P. Santabábara, and P. Bonomi, Determinants of Tumor Response and Survival with Erlotinib in Patients with Non-Small-Cell Lung Cancer, *J. Clin. Oncol.*, 22, 3238 (2004).
 4. C. Garbe, A. Hauschild, M. Volkenandt, D. Schadendorf, W. Stolz, U. Reinhold, R. D. Kortmann, C. Kettelhack, B. Frerich, U. Keilholz, R. Dummer, G. Sebastian, W. Tilgen, G. Schuler, A. Mackensen, and R. Kaufmann, Evidence and Interdisciplinary Consensus-based German Guidelines: Diagnosis and Surveillance of Melanoma, *Melanoma Res.*, 17, 393 (2007).
 5. J. A. Carlson, J. S. Ross, A. Slominski, G. Linette, J. Mysliborski, J. Hill, and M. Mihm, Jr., Molecular Diagnostics in Melanoma, *J. Am. Acad. Dermatol.*, 52, 743 (2005).
 6. A. C. Buzaid and C. M. Anderson, The Changing Prognosis of Melanoma, *Curr. Oncol. Rep.*, 2, 322 (2000).
 7. M. R. Middleton, J. J. Grob, N. Aaronson, G. Fierlbeck, W. Tilgen, S. Seiter, M. Gore, S. Aamdal, J. Cebon, A. Coates, B. Dreno, M. Henz, D. Schadendorf, A. Kapp, J. Weiss, U. Fraass, P. Statkevich, M. Muller, and N. Thatcher, Randomized Phase III Study of Temozolomide versus Dacarbazine in the Treatment of Patients with Advanced Metastatic Malignant Melanoma, *J. Clin. Oncol.*, 18, 158 (2008).
 8. A. Y. Bedikian, M. Millward, H. Pehamberger, R. Conry, M. Gore, U. Trefzer, A. C. Pavlick, R. DeConti, E. M. Hersh, P. Hersey, J. M. Kirkwood, and F. G. Haluska, Bcl-2 Antisense (oblimersen sodium) Plus Dacarbazine in Patients With Advanced Melanoma: The Oblimersen Melanoma Study Group, *J. Clin. Oncol.*, 24, 4738 (2006).
 9. D. H. Lawson, Choices in Adjuvant Therapy of Melanoma, *Cancer Control*, 12, 236 (2005).
 10. S. A. Rosenberg, M. T. Lotze, J. C. Yang, P. M. Aebersold, W. M. Linehan, C. A. Seipp, and D. E. White, Experience with the Use of High Dose Interleukin-2 in the Treatment of 652 Cancer Patients, *Ann. Surg.*, 210, 474 (1989).
 11. M. B. Atkins, M. T. Lotze, J. P. Dutcher, R. I. Fisher, G. Weiss, K. Margolin, J. Abrams, M. Sznol, D. Parkinson, M. Hawkins, C. Paradise, L. Kunkel, and S. A. Rosenberg, High-dose Recombinant Interleukin 2 Therapy for Patients with Metastatic Melanoma: Analysis of 270 Patients Treated between 1985 and 1993, *J. Clin. Oncol.*, 17, 2105 (1999).
 12. C. M. Anderson, A. C. Buzaid, and S. S. Legha, Systemic Treatments for Advanced Cutaneous Melanoma, *Oncology*, 9, 1149 (1995).
 13. L. Serrone, M. Zeuli, F. M. Sega, and F. Cognetti, Dacarbazine-based Chemotherapy for Metastatic Melanoma: Thirty-year Experience Overview, *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, 19, 21 (2000).
 14. W. S. Fletcher, D. S. Daniels, V. K. Sondak, B. Dana, R. Townsend, H. E. Hynes, L. F. Hutchins, and J. R. Pancoast, Evaluation of Cisplatin and DTIC in Inoperable Stage III and IV Melanoma, *Am. J. Clin. Oncol.*, 16, 359 (1993).
 15. B. S. Nam and K. H. Yoo, Synthesis of New Benzaminoquinoline Derivatives with Antiproliferative Activity against

- Melanoma Cell Line, *J. Kor. Oil Chem. Soc.*, **26**, 297 (2009).
16. V. Kumar, G. Bhargava, P. D. Dey, and M. P. Mahajan, A Convenient Route to Biologically Important Quinazolines Using *N*-Arylamino-1,3-diazabuta-1,3-dienes, *Curr. Med Chem.*, **11**, 2549 (2004).
 17. G.-Y. Li, X.-H. Qian, S.-G. Yan, J.-N. Cui, Q.-C. Huang, R. Zhang, F.-Y. Liu, and D.-W. Cui, Synthesis and Biological Activity of Novel Symmetrical Bis-2-phenyliminothiazolidine Derivatives, *J. Med Chem.*, **48**, 3354 (2005).
 18. L. V. Dubey and I. V. Dubey, Side Reactions of Onium Coupling Reagents BOP and HBTU in the Synthesis of Silica Polymer Supports, *Ukr. Bioorg. Acta*, **1**, 13 (2005).
 19. S. M. Wilhelm, L. Adnane, P. Newell, A. Villanueva, J. M. Llovet, and M. Lynch, Preclinical Overview of Sorafenib, a Multikinase Inhibitor that Targets Both Raf and VEGF and PDGF Receptor Tyrosine Kinase Signaling, *Mol. Cancer Ther.*, **7**, 3129 (2008).